

ステロイドホルモン,特に昆虫変態物質,の高等動物 に対する作用に関する研究

著者	大高 忠彦
号	25
発行年	1969
URL	http://hdl.handle.net/10097/15366

氏 名 (本 籍) おお たか ただ ひと
大 高 忠 彦

学 位 の 種 類 薬 学 博 士

学 位 記 番 号 薬 博 第 2 5 号

学位授与年月日 昭和 4 5 年 3 月 2 5 日

学位授与の要件 学位規則第 5 条第 1 項該当

研究科専門課程 東北大学大学院薬学研究科
(博士課程) 薬学専攻

学位論文題目 ステロイドホルモン，特に昆虫変態物質，の
高等動物に対する作用に関する研究

(主 査)

論文審査委員 教授 内 山 充 教授 竹 本 常 松

教授 小 澤 光

論 文 内 容 要 旨

最近、昆虫の変態をつかさどる物質が昆虫、甲殻類、貝類のみでなく植物界にも広く分布していることが明らかとなつてきている。これらの植物のうちには、古来より利尿、強壯の効ありとされている漢方薬として、また食物として利用されているものがあり、一方昆虫変態物質は構造的に脊椎動物の性ホルモンや副腎皮質ホルモンと同じステロイドに属しており、それが高等動物に対していかなる生理作用を発揮するかということは非常に興味あることである。しかし最近迄利用する物質がきわめてわずかであつたため、ほとんどこの方面の研究はなされていなかつた。植物より昆虫変態物質を比較的容易に大量入手出来るようになった現在、この未知分野の解明の糸口が大きく開かれた。

本論文では特にマウスの肝における蛋白生合性に対するこれらの昆虫変態活性ステロイドの影響を検討した。

昆虫変態ステロイドである Ecdysterone を腹腔内注射し、生体内における ^{14}C -アミノ酸の蛋白画分への取り込み活性を検討した結果、投与後2時間で強力な蛋白同化ステロイドである 4-Chlorotestosterone に匹敵する肝における蛋白合成活性の顕著な促進が認められた。さらに細胞下分布をみると、ミクロソームのみならず核、ミトコンドリアにおける蛋白合成活性も促進されていることが認められた。

そこで特にミクロソームにおける蛋白合成活性促進効果に着目し、その作用機作を検討した。無細胞系の蛋白合成の酵素群として肝の均一液を $20,000 \times g$ 15分間冷却遠心し、核、ミトコンドリアを除いた上清、すなわち S-20 画分を用いた。Ecdysterone 投与群の S-20 系の蛋白合成活性は生体内蛋白合成活性の変動をよく反映していた。

この S-20 系での反応時間と ^{14}C -アミノ酸の蛋白画分への取り込みをみると、Ecdysterone 投与群の取り込み活性は反応開始後5分ですでに対照群と比べ促進されていた。両群共に反応開始後25分で平衡に達していた。このことはこの Ecdysterone による蛋白合成活性促進は蛋白合成系の安定化や生成した蛋白質の崩壊速度などには関係なく、蛋白合成能そのものの自体の増加によるものであることを示している。

S-20 系に Ecdysterone 溶液を直接添加した場合は何ら蛋白合成活性に対する影響を認めることは出来なかつた。

この S-20 画分をさらにミクロソームあるいはポリソームと細胞上清 ($105,000 \times g$ 1時間遠心上清、すなわち S-105 画分) に分離し、その作用点が何処に存在するかを検討した。そ

の結果、蛋白質合成の場であるミクロソーム、あるいはミクロソームの膜を可溶化して得たポリソームに Ecdysterone による蛋白質合成活性促進効果が認められた。また酵素、転移 RNA を含む細胞上清、すなわち S-105 画分に対する Ecdysterone の影響は、正常ミクロソームと組合わせた取り込み系を用いた場合に認められ、ポリソームと組合わせた系を用いた場合には認められなかった。すなわち Ecdysterone 投与群細胞上清の蛋白質合成活性促進効果発現には膜構造の関与が考えられ興味深い。

DNA 依存 RNA 合成阻害剤である Actinomycin D の Ecdysterone, 4-Chlorotestosterone による蛋白質合成活性促進効果に対する影響をみると、4-Chlorotestosterone による促進効果は完全に Actinomycin D により抑制されたが、Ecdysterone によるそれは Actinomycin D によつては完全に抑制されず、これに抵抗を示す促進効果が観察された。すなわち 4-Chlorotestosterone による蛋白質合成活性促進はすべて新たな RNA 合成と共役し、Ecdysterone のそれは RNA 合成と共役する部分と、それには無関係な、すなわち translation レベルの機構が関与する部分があることを示唆している。

実際に Ecdysterone の RNA 合成に対する影響を ^{14}C -オロチン酸を前駆体として検討してみると、投与群において核、細胞質両 RNA への ^{14}C -オロチン酸の取り込みが対照群と比較して著しく促進されていた。

Ecdysterone により生成された RNA の分子種を蔗糖密度勾配遠心法により分析すると、細胞質 RNA においては、messenger RNA の性質を有する 6~18S RNA と 4S RNA、すなわち転移 RNA への ^{14}C -オロチン酸の取り込みが顕著に増大していた。一方、核 RNA については、RNA 抽出操作のわずかな違いにより二種の RNA 分布図が得られた。いずれにしても messenger RNA の性質を有していると考えられる RNA への ^{14}C -オロチン酸の取り込み増大が認められた。

次に messenger RNA の性質の一つである蛋白質合成の鑄型活性を検討した結果、Ecdysterone 投与群の細胞質、核両 RNA の蛋白質合成の鑄型活性は対照群と比較して明らかに高いことが認められた。このことは鑄型活性の高い RNA が得られる抽出法、すなわちアルカリ抽出法で得た RNA への ^{14}C -オロチン酸の取り込み活性が Ecdysterone 投与群において明らかに高かったことよりも支持された。

この Ecdysterone による RNA 合成活性促進は Actinomycin D により完全に抑制された。

昆虫変態ステロイドとして、Ecdysterone と Cyasterone を選び、マウスに長期間経口投与を行ない、体重変化ならびに肝および腎らにおける蛋白質合成活性らに対する影響を検討した。

その結果、昆虫変態物質投与群の方が対照群と比較するとわずかではあるが明らかに体重増加が多いことが認められた。実験開始後60日目の最終投与後24時間に肝、腎および脾蛋白への ^{14}C -アミノ酸の取り込み活性を測定したところ、肝および腎においていずれも対照群と比較して、投与群で著しく取り込み活性が促進していることが認められたが、脾ではほとんど変化が認められなかった。Ecdysteroneを1回腹腔内投与した場合に、投与量を増大させても蛋白合成活性促進効果の絶対値は変わらなかったが、投与量が多くなると効果持続時間の延長が認められた。しかし投与量が $100\mu\text{g}$ の場合でも1回投与では効果持続時間は半日程度であつたが上期のように長期間連続投与した場合、1回の投与量が $5\mu\text{g}$ でも、最終投与後24時間においても著しい効果が認められた。

肝および腎のRNAへの ^{14}C -オロチン酸の取り込み活性も投与群の方が対照群と比較して高かつた。

さらに、長期間連続投与した後の動物の肝を組織学的に調べると、巨大核、2核性ないし多核性、あるいは核分裂(mitosis)の生じている細胞が多くなつており、これらは通常きわめて幼若な動物の肝組織像として知られているのに類似していた。投与量の多い群には、細胞の機能亢進による核の濃縮や細胞の壊死が認められた。また長期連続投与したことより、外見上何ら異常は観察されなかった。

本来の昆虫変態ホルモンであるEcdysoneはマウス肝における蛋白合成活性にはほとんど促進効果を有していなかった。一方骨格は諸種の昆虫変態物質と同様であるが、側鎖を有せず17-ケトになつていて昆虫変態活性はきわめて弱いRubrosteroneは他のものと同様に強力な蛋白合成活性促進作用を有していた。このように昆虫変態活性と高等動物の蛋白合成促進効果とは構造的に必ずしも一致しない。

またこの昆虫変態物質は雌雄の別なくその効果を発揮した。

このように昆虫変態ステロイドは少なくともRNA合成を伴つた従来の強力な蛋白同化ステロイドの一つである4-Chlorotestosteroneと匹敵する蛋白同化作用を有しており、従来の種々のステロイド療法に代わる医療品としての応用の途が期待される。

高等動物の生体内ステロイドホルモンとして代表的な糖質コルチコイドであるコルチゾンのマウス肝における蛋白合成に対する影響を検討した結果、投与初期、すなわち投与後30、60分に明らかな蛋白合成活性促進が認められた。副腎摘出マウスを使用した場合、正常マウスを使用した場合と比べて、傾向は変わらないがより顕著なコルチゾンの影響が認められた。この時のポリソーム分布を蔗糖密度勾配遠心法で分析すると、コルチゾン投与群において重いポリソームの顕著な増加が観察された。

一方、コルチゾン投与後時間が経過すると、すなわち投与後3時間頃から逆に肝における蛋白合成活性の抑制が生じた。この現象は正常、副腎摘出マウスの両方に同様に認められた。このコルチゾンによる蛋白合成活性抑制はポリソーム画分と、酵素、転移RNAを含む画分、すなわちS-10.5画分の両方に起因していた。ポリソーム画分に起因する抑制現象は、蔗糖密度勾配遠心法により、ポリソームの減少によるものではないことを明らかにした。

この抑制現象はおそらく“Cytoplasmic repression”と云われているのかもしれない。

このコルチゾンによる蛋白合成活性抑制効果は9-11月頃に実験を行なった場合に再現性良く認められたが、他の時期では再現性の良い結果は得られなかった。

故に、ホルモンらによる生体内代謝調節機構を研究する場合、季節という因子も十分に考慮しなければならない。また代謝系の日週変動も同様に考慮に入れなければならない。

審 査 結 果 の 要 旨

本論文はマウス肝における蛋白質合成に対するステロイドホルモンの影響を検討したもので、主として昆虫変態活性を有するステロイドを中心として取扱かっている。

植物から昆虫変態活性を有する種々のステロイドが単離されたが、それらの多くが高等動物に対して蛋白同化促進効果を有することを見出した。そしてその代表的なものとして Ecdysterone をえらび、機作を詳細に検討した。Ecdysterone の腹腔内投与によつてマウスでは、2 時間後に蛋白へのアミノ酸取込みが著明に増大する。アミノ酸取込みは *in vitro* でも *in vivo* でも促進される。また肝以外たとえば腎組織にもこの影響が明らかであつた。効果は従来強力な蛋白同化ステロイドとして知られている 4-chlorotestosterone に匹敵するものであつた。Ecdysterone を組織に *in vitro* で接触せしめても蛋白同化は促進されない。

この事実から出発して作用機作を詳細に検討した結果、次のような種々の知見を得た。すなわち Ecdysterone の蛋白合成促進は、合成酵素系の安定化や生成蛋白の崩壊速度などには関係なく蛋白合成能そのものの増加によるものである。また作用点は細胞下画分中のミクロソームまたはポリソームにあり、さらに細胞上清に対しては正常ミクロソームを用いた時のみ促進効果を見、ポリソームでは認められないことから効果発現に膜構造の関与を示唆している。

Actinomycin D による阻害実験をおこなうと Ecdysterone によつて促進された蛋白合成活性は完全には抑制されない。これは 4-chlorotestosterone と明らかに異なるところで、Ecdysterone の効果が RNA 合成促進と共役している部分の他に、それに無関係なすなわち translation レベルに關与した部分のあることを示す。

RNA 合成は上に述べたように Ecdysterone の効果の主要な部分として著明に促進されており、蔗糖密度勾配遠心法による分析や蛋白合成の鋳型活性の結果から、messenger RNA の性格を有しているものが主として増加していることを明らかにし得た。

次にこれら昆虫変態活性ステロイドの蛋白同化促進能が、動物に長期投与した時もたらす影響を見るため Ecdysterone と Cyasterone を 3 ヶ月間連続経口投与した。その結果投与群の体重がやゝ対照群より多いこと、肝、腎での蛋白合成、RNA 合成が高まつていること、組織像が幼若動物の如き所見を呈することなどを確認した。

数多くの昆虫変態ステロイドを用いて構造と活性の相関を検討したが、動物に対する蛋白合成促進効果と昆虫変態促進効果は必ずしも一致しない。Rubrosterone は前者は大きいが後者は認められず、Ecdysone は全くこの逆であつた。

以上のように昆虫変態ステロイドに関して動物に対する蛋白同化促進の作用機作がほとんども明らかとなつたが動物体内の代表的ステロイドホルモンのコルチゾンを用いた実験では投与後の時間経過と共に初期の促進効果とは逆の抑制が出ることを見出した。これはいわゆる "Cytoplasmic repression" と云われているものと思われる。

本論文は上に述べた如く昆虫変態ホルモンを中心として、動物の蛋白合成系へのステロイドの影響を研究する上に新しい知見を加えたものである。よつて本論文は学位を授与するに値するものと認める。